

令和元年8月21日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H03086

研究課題名(和文)先制医療を実現するためのストレス性代謝変容を基軸とした抑うつバイオマーカー検索

研究課題名(英文) Tryptophan metabolic profile is effective for preemptive medicine in depression symptoms

研究代表者

齋藤 邦明 (Saito, Kuniaki)

藤田保健衛生大学・保健学研究科・教授

研究者番号：80262765

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,600,000円

研究成果の概要(和文)：抑うつなどの心身の異常の発症には、遺伝的要因や環境要因など様々な病因が関係している。本研究は、抑うつ、ストレスならびに食習慣に関する調査データが付随した暦年的(経時的)に採取・保存された人間ドック、疾患バイオリソース(BR)を用いて、ビッグデータ解析を可能とするデータベースを作成した。効率的に選択したBRを用いてストレス、抑うつなどに伴い変動する疾患特異的代謝機能の変動をオミックス解析により明らかにする事により、疾患特異的マーカー分子が同定された。本研究により抽出されたトリプトファン代謝産物のプロファイリングは、抑うつ病態の早期検出つまりは先制医療の実現に有効であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、健康状態や食習慣、ストレス情報を含む環境因子等を電子情報として統合・管理する暦年的健常人データベースの構築を行った。また本データベースを用いた解析により、抑うつ病態における先制医療を可能とするためにトリプトファン代謝産物の変動が有効であることが示唆された。本研究により構築された暦年的健常人データベースは、今後も様々な疾患の先制医療を可能とする新規マーカー検索につながる検討であり、広く臨床に貢献できる検討であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The risk for developing mental illnesses such as depression is caused by a combination of genetic, biological, environmental, and psychological factors. The Bio-Resources/Database are very important for the establishment of preemptive medicine and understanding the mechanisms of the developmental origins of mental illnesses. In the present study, we established the bio-resources/database comprising personal health records (PHR), such as individual health/medical records including daily diet, exercise, General Health Questionnaire (GHQ) and Center for Epidemiological Studies-Depression (CES-D), taken from the same individuals with bio-resources (the bank serum of the Resource Center for Health Science (RECHS)). With using these bio-resources/database, metabolomics analysis revealed that change in tryptophan metabolic profile correlated with the depression score, and we established the disease-specific marker in depression which enabled preemptive medicine.

研究分野：病態生化学

キーワード：先制医療 バイオマーカー 抑うつ

1. 研究開始当初の背景

急速に少子高齢化が進むわが国では、医療技術の進歩や医療ニーズの増大により医療費が急速に増加しており、医療費負担の高騰にどう対処するかは重大な課題となっている。そのような現状で「先制医療」の実現が期待されている。先制医療とは、疾患特異的バイオマーカーを用いることで、発症よりも早期（以下、不健康とする）に高い精度で発症予測・診断を行うことで、病気の症状や重大な組織の障害が起こる前の適切な時期に治療的介入を実施して発症を予防するか遅らせるという、新しい医療のパラダイムシフトである。生活習慣病やストレス関連疾患とされる抑うつ発症など多くの疾患で先制医療の実現が期待されている。また、メンタルヘルス対策の充実を目的として職員のストレスをチェックする事を義務化する労働安全衛生法の一部を改正する法案（ストレスチェック義務化法案）が成立した。しかし、ストレスによる不健康を見つけ出すためのバイオマーカー、確定診断、その間の治療と社会復帰等、その社会医療システム構築は発展途上である。特にストレスに関連した抑うつ症状の発症は、遺伝的素因と環境要因の間で生じる相互作用 (gene-environment interaction) が深く関係している。遺伝的関与は 30-50% とされており (Nishichi R & Kumagai S. J Health Sci. 31: 23-36, 2009)、糖尿病や高血圧などの生活習慣病とほぼ同程度である。抑うつ発症の環境要因として、第一に過度なストレスが挙げられる。ストレスにより生じた内分泌・免疫系を介する適応反応は、脳によって統合・処理され、自律神経機能や情動変化として表現型に現れる。強度の心理的ストレスにより、脳における海馬神経細胞の脱落あるいは萎縮が起こること (Gould E et al. Bio Psychiatry. 46: 1472-9, 1999)、そして脳可塑性と関係する神経新生にも強い抑制をもたらす、脳の器質的な障害を引き起こすことなどが明らかにされている (Lemaire V et al. Proc Natl Acad Sci USA. 97: 11032-7, 2000)。一方、抑うつ発症メカニズムの一つに慢性炎症あるいは疼痛との関係が示唆されている (Maes M et al. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 35: 664-75, 2011)。

上述の通り、従来の研究により個々の因子と抑うつ発症との関係は明らかにされつつあるが、早期診断・治療を行うためには複数因子が絡む複雑系を想定し、遺伝的・環境的要因を含めた総合的に解析できるシステムの構築とバイオマーカーが必須である。このシステム開発は抑うつ発症のみならず、生活習慣病をはじめとした多くの疾患で望まれている。

2. 研究の目的

抑うつの発症は、遺伝的要因、環境要因さらに神経可塑性の異常など様々な因子が関わっていると推測される。本研究では抑うつ

を恒常性の破綻による病態と捉え、さらに個人レベルでの恒常性の変動を健常から時系列的に追跡可能とする技術の創出とシステム構築を目指した。すなわち、個人毎の健康状態や食習慣、ストレス情報を含む環境因子等を電子情報として統合・管理する健康情報システムの構築と、蓄積された大規模な電子情報をビッグデータ解析し、個人毎に健常時から経時的に追跡、「抑うつ」の発症リスク予測やその早期対策・治療介入を効果的に実施することを支援できる先制医療の実現を目指したシステム開発を目的とした。

3. 研究の方法

1) 健診受診者(5137名)を対象とした個人毎経時的代謝機能を追跡可能とするデータベースの構築

本研究は、京都大学ならびに社会医療法人蘇西厚生会 松波総合病院（岐阜県羽島郡）の倫理委員会の承認、及び同意の得られた人間ドック受診者の健診結果と提供された血清サンプル（5137名）を解析対象とした。食習慣調査(BDHQ)、抑うつ調査(CES-D)、ストレス調査(GHQ28)、各種健診結果、問診データをデータベース化した。血液の採取は健診の採血と同時にを行い、測定まで-80で保存されていた血清を使用した。

2) 健診受診者サンプルのオミックス解析によるバイオマーカー創出

<血清中トリプトファン代謝産物解析>

血清より過塩素酸を用いて除蛋白し、遠心後、上清を高速液体クロマトグラフィーに注入した。移動相として 10mM 酢酸ナトリウム、1.7~2.0% アセトニトリル(pH4.5)を調整した。カラムは TSKgel ODS-100v を用いた。トリプトファン(TRP)、キヌレニン(KYN)の測定には紫外線可視分光検出器を用い、3-ヒドロキシアントラニル酸(3HAA)、キヌレン酸(KA)、アントラニル酸(AA)の測定には蛍光検出器を用いた。3-ヒドロキシキヌレニン(3HK)測定は除蛋白し、遠心後、上清を高速液体クロマトグラフィーに注入した。移動相として 0.27mM EDTA、8.9mM 1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム、0.59% リン酸、0.9% トリエチルアミン、1% アセトニトリルを調整した。3HK の測定には電気化学検出器を用いた。カラムは EICOMPAK SC-5ODS を用いた。

<血清中サイトカイン解析>

Luminex(MerckMillipore 社)によるマルチプレックスアッセイを用いて測定した。測定はすべて MerckMillipore 社に従い、分析には Luminex®200xPONET®3.1 システムを用いた。

4. 研究成果

1) 歴年的健常人データベースの構築

5137 名の人間ドック受診者の食習慣調査(BDHQ)、抑うつ調査(CES-D)、ストレス調査(GHQ28)、常備薬、各種健診結果、問診デ

ータを含むデータベースを構築した。平均年齢、平均身長、平均体重、平均 BMI を Table 1 に示した。BMI が 25 以上は 5137 人中 999 人(19.4%)、BMI 30 以上は 113 人(2.2%)であった。

2) 抑うつが血清中トリプトファン代謝産物へ与える影響

抑うつが血清中トリプトファン代謝産物に与える影響について検討を行うため、抑うつハイリスク群 [Depress 42 名(男性 28 名、女性 14 名)] と年齢をマッチさせた健常対照群 [Control: 42 名(男性 25 名、女性 17 名)] の血清中のトリプトファン代謝産物を測定した。

男女ともに Trp の減少、AA の上昇が有意に見られた。また、男性で KA/Kyn 比の上昇、女性で 3HAA の減少が有意に見られた。(図.1)。

先制医療を実現可能とする抑うつハイリスク群の検出マーカーとして、トリプトファン代謝産物が有効か検証するために、検証サンプルの抽出を行った。検証サンプルには、1 年目は抑うつを示していなかったが (CES-D<16)、2 年目に抑うつを示した (CES-D 16) 抑うつハイリスク群 [HRMDD 33 名: (男性 17 名、女性 16 名)] と、1 年目も 2 年目も抑うつを示していない (CES-D<16) 対照群 [Control: 66 名(男性 34 名、女性 32 名)] を抽出した。各個人における血清中のトリプトファン代謝産物量の変化について検討を行った。抑うつハイリスク群では 1 年目と比較して、有意な AA の増加が認められたが、そのような変化は健常群では認められなかった(図 2)。一方、両群の TRP、KYN、3HAA、KA、および 3HK には有意な暦年的な変化は認められなかった(図 2)。また CES - D のスコアの上昇率が高い症例ほど、AA の増加率が高い傾向が認められた(図 3)。

抑うつスコアと各種トリプトファン代謝産物の相関を検討したところ、抑うつハイリスク群において、CES-D のスコアと AA に相関が認められた ($r=0.53$)。

Table 1. Characteristics of study population

Variable	Male	Female
Number	3132	2005
Age, yr	50.7±9.3 (26-87)	48.0±8.9 (24-74)
Height, cm	170.4±5.9 (147-191.4)	157.9±5.2 (142-178.5)
Body weight, kg	68.0±9.4 (42.5-121.9)	53.7±7.7 (34.3-98.4)
BMI, kg/m ²	23.8±3.1 (15.5-42.9)	21.4±3.1 (13.1-38.4)
BMI≥25, number	788	211
(BMI≥30)	(80)	(33)

The upper row indicates mean±SD. The lower indicates the range.

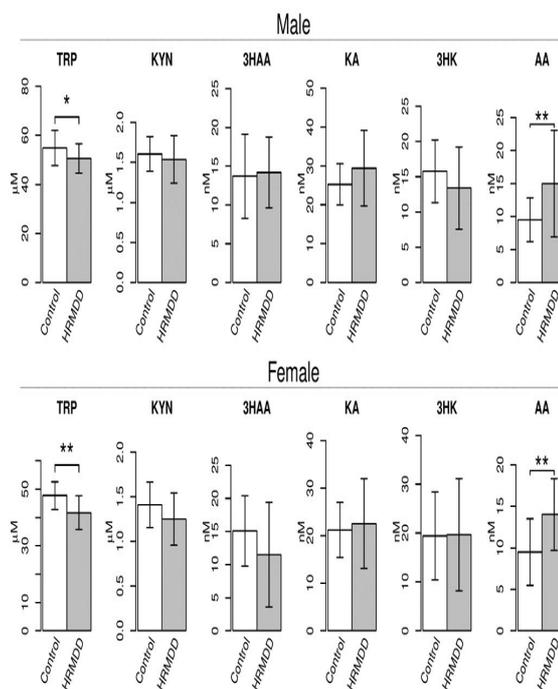


図 1 . 健常人(Control)と抑うつハイリスク群(High risk subjects of major depressive disorder: HRMDD)における血清中トリプトファン代謝産物

** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ vs. control.

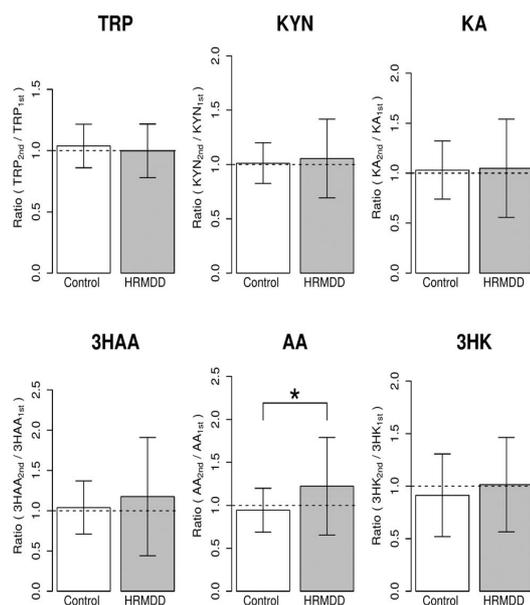


図 2 . 健常人(Control)と抑うつハイリスク群(High risk subjects of major depressive disorder: HRMDD)における暦年的な抑うつスコアの変動と血清中トリプトファン代謝産物変動

* $p < 0.05$ vs. control.

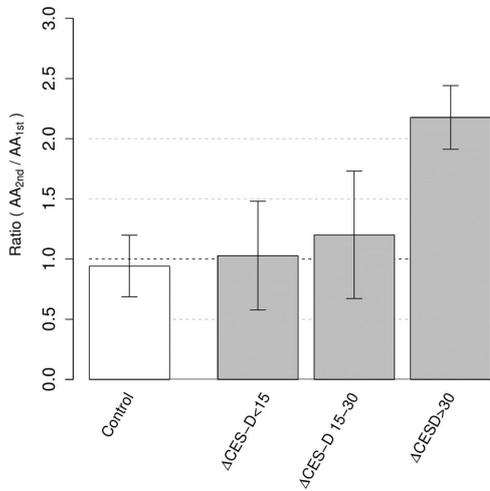


図3. 健常人(Control)と抑うつハイリスク群 (High risk subjects of major depressive disorder: HRMDD)における暦年的な抑うつスコアの変動とAA変動

3) 各種炎症性サイトカインと抑うつスコアおよびトリプトファン代謝産物の関係について

抑うつハイリスク群において、1年目と2年目の血清中サイトカインの測定を行い、抑うつスコアとトリプトファン代謝産物および炎症性サイトカイン量の相関を検討した。抑うつスコアと各種サイトカイン量において、相関は認められなかった。しかしながらトリプトファン代謝産物のAAは、炎症抑制作用のあるIL-1RAと負の相関が見られた。

本検討により抑うつハイリスク群において、抑うつスコアに伴いトリプトファン代謝産物であるAAの上昇が認められたことから、暦年的なトリプトファン代謝産物の変化が抑うつ発症のマーカーになる可能性が示唆された。更に今回構築したデータベースは、暦年的な健常人の変化を含んでおり、先制医療の実現を可能とするバイオマーカー検索に有効なバイオリソースとなり得ると考えられる。

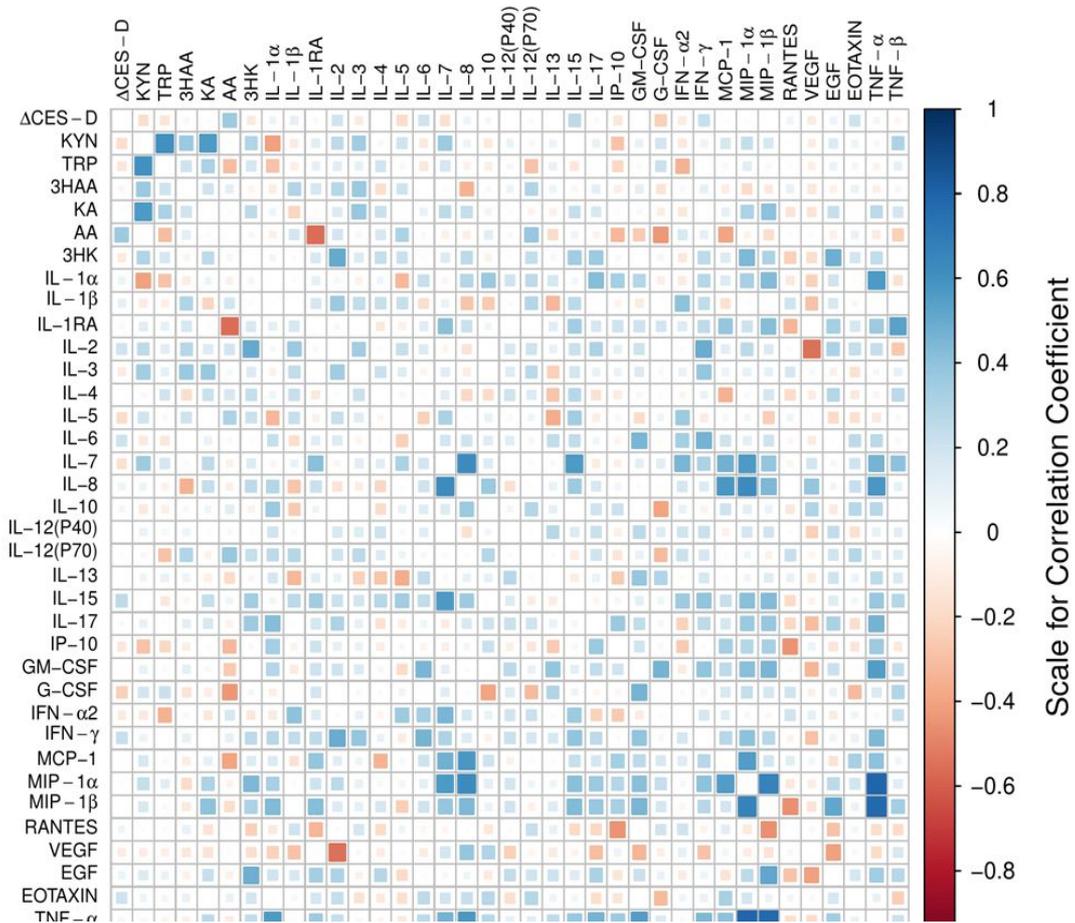


図4. 抑うつハイリスク群における暦年的な抑うつスコアの変動とトリプトファン代謝産物変動および各種サイトカイン変動

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 11 件)

Yamazaki M, Yamada H, Munetsuna E, Ishikawa H, Mizuno G, Mukuda T, Mouri A, Nabeshima T, Saito K, Suzuki K, Hashimoto S, Ohashi K: Excess maternal fructose consumption impairs hippocampal function in offspring via epigenetic modification of BDNF promoter. *FASEB J*. 2018 Jan 32(5):2549-2562. doi: 10.1096/fj.201700783RR.

Sobue A, Ito N, Nagai T, Shan W, Hada K, Nakajima A, Murakami Y, Mouri A, Yamamoto Y, Nabeshima T, Saito K, Yamada K: Astroglial major histocompatibility complex class I following immune activation leads to behavioral and neuropathological changes. *Glia*. 2018May;66(5):1034-1052 doi: 10.1002/glia.23299.

Kimura A, Takemura M, Serrero G, Yoshikura N, Hayashi Y, Saito K, Inuzuka T: Higher levels of progranulin in cerebrospinal fluid of patients with lymphoma and carcinoma with CNS metastasis. *J Neurooncol*. 2018 May;137(3):455-462 doi: 10.1007/s11060-017-2742-z.

Yamamoto Y, Goto N, Takemura M, Yamasuge W, Yabe K, Takami T, Miyazaki T, Takeuchi T, Shiraki M, Shimizu M, Adachi S, Saito K, Shibata Y, Nakamura N, Hara T, Serrero G, Saito K, Tsurumi H: Association between increased serum GP88 (progranulin) concentrations and prognosis in patients with malignant lymphomas. *Clin Chim Acta*. 2017 Oct ; 473:139-146. doi: 10.1016/j.cca.2017.07.024.

Shibata Y, Hara T, Matsumoto T, Nakamura N, Nakamura H, Ninomiya S, Kitagawa J, Goto N, Nannya Y, Ito H, Kito Y, Miyazaki T, Takeuchi T, Saito K, Seishima M, Takami T, Moriwaki H, Shimizu M, Tsurumi H: Serum concentrations of l-kynurenine predict clinical outcomes of patients with peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified. *Hematol Oncol*. 2017 35(4):637-644. doi: 10.1002/hon.2318.

Kubo H, Hoshi M, Matsumoto T, Irie M, Oura S, Tsutsumi H, Hata Y, Yamamoto Y, Saito K: Sake lees extract improves hepatic lipid accumulation in high fat diet-fed mice. *Lipids Health Dis*. 2017 Jun 3;16(1):106. doi: 10.1186/s12944-017-0501-y.

Kimura A, Takemura M, Saito K, Serrero G, Yoshikura N, Hayashi Y, Inuzuka T: Increased cerebrospinal fluid progranulin correlates with interleukin-6 in the acute phase of neuromyelitis optica spectrum disorder. *J Neuroimmunol*. 2017 Apr 15 ; 305:175-181. doi: 10.1016/j.jneuroim.2017.01.006.

Tashiro T, Murakami Y, Mouri A, Imamura Y, Nabeshima T, Yamamoto Y, Saito K: Kynurenine 3-monooxygenase is implicated in antidepressants-responsive depressive-like behaviors and monoaminergic dysfunctions. *Behav Brain Res*. 2017 Jan 15 ;317:279-285. doi: 10.1016/j.bbr.2016.09.050.

Effect of water-immersion restraint stress on tryptophan catabolism through the kynurenine pathway in rat tissues. Ohta Y, Kubo H, Yashiro K, Ohashi K, Tsuzuki Y, Wada N, Yamamoto Y, Saito K. *J Physiol Sci*. 2017 May;67(3):361-372. doi: 10.1007/s12576-016-0467-y.

Murakami Y, Ishibashi T, Tomita E, Imamura Y, Tashiro T, Watcharanurak K, Nishikawa M, Takahashi Y, Takakura Y, Mitani S, Fujigaki H, Ohta Y, Kubo H, Mamiya T, Nabeshima T, Kim HC, Yamamoto Y, Saito K. Depressive symptoms as a side effect of Interferon- therapy induced by induction of indoleamine 2,3-dioxygenase 1. *Sci Rep*. 2016 Jul 20;6:29920. doi: 10.1038/srep29920.

L-Tryptophan-kynurenine pathway enzymes are therapeutic target for neuropsychiatric diseases: Focus on cell type differences. Fujigaki H, Yamamoto Y, Saito K. *Neuropharmacology*. 2017 Jan;112(Pt B):264-274. doi:10.1016/j

〔学会発表〕(計 8 件)

Kuniaki Saito

Depressive symptoms and L-Tryptophan-Kynurenine pathway metabolism focus on neuro-inflammation. The 5th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology (2017.4.27-29, Indonesia)

齋藤邦明: (講演) 免疫調節因子 IDO を基軸とした創薬・新薬開発 婦人科腫瘍研究会 (2017.7.7 浜松)

齋藤邦明: (講演) 脳神経疾患における治療標的としてのトリプトファン-キヌレニン代謝酵素」第 23 回脳の医学・生物学研究会 (2017.8.17 名古屋)

祖父江顕, 伊藤教道, 羽田和弘, 中島晶, 村上由希, 毛利彰宏, 山本康子, 鍋島俊隆, 齋藤邦明, 永井拓, 山田清文: アストログリアにおける MHC1 の発現とその行動学的・神経病理学的影響 日本生物学的精神医学会 第 39 回日本生物学的精神医学会・第 47 回日本神経精神薬理学会 合同年会 (2017. 9.28-30 札幌)

藤垣英嗣, 吉田幸弘, 山本康子, 齋藤邦明: Kynurenine 3-monooxygenase 遺伝子 R452C 変異解析の基礎的検討. 第 57 回日本臨床化学会年次学術集会 (2017.10.06-08 北海道)

吉田幸弘, 藤垣英嗣, 山本康子, 齋藤邦明: 酵素法を用いたキヌレニン定量法の開発. 第 57 回日本臨床化学会年次学術集会 (2017.10.06-08 北海道)

竹村正男, 佐藤正夫, 伊藤弘養, 清島満, 齋藤邦明: RA 患者の血中インフリキシマブ濃度測定の意味」第 64 回日本臨床検査医学会学術集会 (2017.11.18 京都)

吉田幸弘, 藤垣英嗣, 山崎杏佳, 山本康子, 齋藤邦明: Kynurenine aminotransferase 2 を用いたキヌレニン測定法の開発. 第 38 回日本トリプトファン研究会学術集 (2017.12.2-3 愛知)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 精神疾患の判定方法
発明者: 齋藤邦明、山本康子
出願人: 富士フイルム和光純薬株式会社
番号: 特願 2018-051017
出願年月日: 2018.3.19
国内外の別: 国内

名称: 精神疾患の判定方法
発明者: 齋藤邦明、山本康子
出願人: 富士フイルム和光純薬株式会社
種類: 国際出願 (PCT 出願)
番号: PCT/JP2019/011091
取得年月日: 2019 年 3 月 18 日
国内外の別: 国際

〔その他〕

ホームページ

<http://www.saito-lab-kyotouniv.com>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 邦明 (SAITO Kuniaki)

藤田医科大学・保健学研究科・教授

研究者番号: 80262765

(2) 研究分担者

山本 康子 (YAMAMOTO Yasuko)

藤田医科大学・医療科学部・准教授

研究者番号: 00331869

(3) 研究分担者

藤垣 英嗣 (FUJIGAKI Hidetsugu)

藤田医科大学・医療科学部・講師

研究者番号: 00612631